Aus dem Institut für Cytobiologie und Cytopathologie
der Universität Marburg

Direktor: Prof. Dr. Wolfgang Thoenes

Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Cytologie des Hundelymphknotens unter Berücksichtigung verschiedener Kontrastierungsverfahren nach Glutaraldehydfixierung

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
des Fachbereiches Humanmedizin
der
Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Renate Osterwald

aus Bielefeld

Marburg/Lahn 1972

Fotodruck: Erich Mauersberger, Marburg

Aus dem Institut für Cytobiologie und Cytopathologie
der Universität Marburg

Direktor: Prof. Dr. Wolfgang Thoenes

Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Cytologie des Hundelymphknotens unter Berücksichtigung verschiedener Kontrastierungsverfahren nach Glutaraldehydfixierung

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
des Fachbereiches Humanmedizin
der
Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Renate Osterwald

aus Bielefeld

Marburg/Lahn 1972

Fotodruck: Erich Mauersberger, Marburg

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin
der Philipps - Universität Marburg am I.8.I972

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs
Dekan: Prof. Dr. H. Oepen
Referent: Prof. Dr. W. Vogell
Correferent: Prof. Dr. W. Thoenes

INHALTSVERZEICHNIS

1. Einleitung:
1.1 Geschichte
1.2 Aufgabenstellung

2. Methodischer Teil:
2.1 Material
2.2 Präparation der Lymphknoten
2.3 Fixierung
2.31 Glutaraldehyd - Fixierung
2.32 Glutaraldehyd - Osmiumtetroxid Fixierung
2.4 Einbettung und Schnittechnik
2.5 Kontrastierung
2.51 Kontrastierung mit Bleihydroxid
2.52 Kontrastierung mit Bleicitrat
2.53 Kontrastierung mit Uranylacetat
2.54 Kontrastierung mit Uranylacetat und Bleicitrat
2.6 Elektronenmikroskopischer Untersuchungsgang
2.7 Herstellung von Bildmontagen

3. Ergebnisse:
3.1 Beschreibung der Lymphknotenfeinstruktur
3.11 Histologie der Lymphknotenpulpa
3.111 Ultrastruktur der Pulpazellen
3.1111 Retikulumzellen
3.1112 Hämocytoblasten
3.1113 Lymphatische Zellen
3.1114 Plasmazellen
3.12 Histologie der Sekundärknötchen
3.121 Ultrastruktur der Sekundärknötchen
3.2 Verwendung verschiedener Kontrastierungen nach Glutaraldehydfixierung
3.21 Kontrastierung mit Bleihydroxid
3.22 Kontrastierung mit Bleicitrat
3.23 Kontrastierung mit Uranylacetat

3.24 Kontrastierung mit Uranylacetat und Bleicitrat

4. Diskussion

5. Zusammenfassung

6. Literaturverzeichnis

7. Bildmaterial

VERZEICHNIS DER ABBILDUNGEN

Nr.	Text
I	Nicht phagozytierende Retikulumzelle
II	Phagozytierende Retikulumzelle aus der Pulpa
III	Hämocytoblast
IV	Lymphatische Zelle
V	Plasmoblast
VI	Proplasmazelle
VII	Reife Plasmazellen im Verband
VIII	Ausschnitt aus der Lymphknotenpulpa
IX	Zelle in Mitose
X	Ausschnitt aus einem Keimzentrum
XI	Lymphozyten aus dem Keimzentrumswall
XII	Kontrastierung mit Bleihydroxid
XIII	Kontrastierung mit Bleicitrat
XIV	Kontrastierung mit Uranylacetat
XV	Kontrastierung mit Uranylacetat und Bleicitrat

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41534913_0025

1. Einleitung

1. 1. Geschichte

Trotz der großen biologischen Bedeutung, die dem lymphatischen Gewebe bei allen immunologischen Reaktionen und dem "turnover" lymphoider Blutzellen zukommt, herrscht besonders hinsichtlich der Ultrastruktur dieses Organsystems im größeren Zusammenhang noch mancherlei Unklarheit. Die Histologie des Lymphknotens wurden zum ersten Mal ausführlich von MAXIMOW (32) im Jahre 1927 dargestellt. Danach erschienen Studien zu diesem Thema von EHRICH 1931 (16) JECKELN 1932/33 (24) und BLOOM 1938 (12). Die umfangreichste Untersuchung über den histologischen Aufbau des lymphatischen Gewebes veröffentlichte LENNERT im Jahre 1961 (26). Er unternahm den Versuch, die Cytologie dieses Gewebes zu ordnen, und wies auf die Zusammenhänge der dort vorkommenden Zellreihen hin. Während die genannten Arbeiten überwiegend lichtmikroskopische Befunde wiedergaben und in Zusammenhang brachten, erschienen nach den ersten elektronenmikroskopischen Arbeiten von BRAUNSTEINER, FELLINGER und PAKESCH (13, 14, 15), MURRAY, MURRAY und PIZZO (37), THIERY (48), BESSIS (11), McFARLAND (33) u. a. zu dem gleichen Thema in rascher Folge zahlreiche Publikationen über die verschiedenen im Lymphknoten vorkommenden Zellen. (STOECKENIUS 1958 (46), BERNHARD und GRANBOULAN (8), BERNHARD und LEPLUS (1o), MORI und LENNERT (35).

1. 2. Aufgabenstellung

Die vorliegenden elektronenmikroskopischen Untersuchungen lassen die große Vielfältigkeit in der Cytomorphologie des Lymphknotens und die daraus resultierenden Schwierigkeiten bei der Interpretation erkennen. Die bisher gewonnenen Erkenntnisse beziehen sich vorwiegend auf Einzelaufnahmen an Ultradünnschnitten des Lymphknotens und kultivierter Lymphozyten, ohne dabei topographische Zusammenhänge hinreichend zu berücksichtigen.

Als eine Voraussetzung für die Beurteilung des biologischen Geschehens am Lymphknoten ist es jedoch notwendig, die bisher beschriebenen Zellen innerhalb größerer zusammenhängender Zellverbände mit dem Elektronenmikroskop zu untersuchen. Da der Gewebsausschnitt, der von einer einzelnen elektronenmikroskopischen Aufnahme erfaßt wird, durch die begrenzenden Faktoren der Technik selbst nur klein sein kann, war es für unsere Untersuchungen notwendig, Bildmontagen zu verwenden. Um eventuelle Änderungen in der Verteilung DNA- und RNA-haltiger Strukturen bei den einzelnen Zellstufen zu erfassen, schien es weiterhin sinnvoll, bei ausschließlicher Glutaraldehydfixierung verschiedene Kontrastierungsmittel zu prüfen.

2. Methodischer Teil

2. 1 Material

Als Untersuchungsmaterial dienten Popliteallymphknoten von insgesamt 5 Hunden. Die Gewebsentnahme erfolgte in Intubationsnarkose. In diesem Zusammenhang ist festzustellen, daß die Tiere weder unter sterilen Bedingungen aufgezogen noch gehalten werden konnten. Somit ist nicht auszuschließen, daß sich im regionalen Abflußgebiet der untersuchten Popliteallymphknoten entzündliche Prozesse abspielten, die klinisch nicht in Erscheinung traten und dennoch zu einer Aktivierung des lymphatischen Gewebes geführt hatten.

2. 2 Präparation der Lymphknoten

Aus dem Zentrum des Lymphknotens wurde eine etwa 1 mm dicke Scheibe entnommen, sofort in eisgekühlten Glutaraldehyd übertragen und über 4 Stunden bei 4^{o} C vorfixiert. In einem Saccharose-Phosphat Puffer (pH = 7,2) wurden danach unter einer Stereolupe aus den verschiedenen Lymphknotenbezirken 1 mm^3 große Blöckchen präpariert.

2. 3 Fixierung

2. 31 Glutaraldehyd - Fixierung :

5 %iger Glutaraldehyd in wässriger Lösung (Phosphat-Puffer nach SÖRENSEN, pH 7,2 - 7,4) diente als Ausgangslösung. Da die konzentrierte Glutaraldehydlösung (25 %ig) spontan zur Polymerisation neigt und diese Umwandlung einen negativen Einfluß auf die Strukturdarstellung hat, wurde der Glutaraldehyd nach Kochsalzsättigung aus der Wasser- in die Ätherphase überführt. Der durch Ausschütteln gewonnene Ätherextrakt wurde zunächst mit Natriumsulfat getrocknet, der Äther im Vakuum abgezogen und der reine Glutaraldehyd im gleichen Vakuum bei seinem Siedepunkt von 71^{o} C in eine wässrige Vorlage überdestilliert, die mit einem Citratpuffer auf einen pH von 4,o eingestellt war. Die Konzentration des reinen,

d. h. monomeren Glutaraldehyd wurde aus der Gewichtszunahme der Vorlage bestimmt. Das Fixierungsgemisch wurde aus 5 %igem Glutaraldehyd mit einem isotonischen Saccharose-Phosphat Puffer nach SÖRENSEN (pH 7,2 - 7,4) hergestellt. Hierin wurde das lebendfrische Lymphknotengewebe über 4 Stunden bei 4° C fixiert, anschließend der Glutaraldehyd mehrmals im Saccharose-Phosphat Puffer (s.o.) ausgewaschen und das Gewebe in der beschriebenen Weise präpariert. Danach wurde in einer aufsteigenden Alkoholreihe entwässert.

2. 32 Glutaraldehyd-Osmiumtetroxid Fixierung :

Hierbei wurde an die beschriebene Fixierung eine einstündige Nachfixierung in einer gepufferten Osmiumtetroxidlösung bei 4° C angeschlossen. Es wurde ebenfalls der Saccharose-Phospnat Puffer nach SÖRENSEN (pH 7,2 - 7,4) verwendet und im Anschluß an die Fixierung in gleicher Weise in einer aufsteigenden Alkoholreihe entwässert.

2. 4 Einbettung und Schnittechnik

Die Präparatblöckchen wurden nach der Entwässerung dreimal für je 1o Min. in Propylenoxid überführt und im Anschluß daran nach der Methode von LUFT (28) in Epon eingebettet. Die Dünnschnitte wurden mit dem Mikrotom nach VOGELL mit thermischem Vortrieb unter Verwendung von Glasmessern hergestellt und anschließend auf mit FORMVAR befilmten Kupfernetzen aufgefangen. Zur Orientierung wurden zuvor nach der Methode von MADEMANN, SIEPMANN und KUHNEL (29) von dem epon-eingebetteten Material großflächige, o,5 - 2,o mm dicke Schnitte angefertigt und auf einem Objektträger mit Toluidinblau angefärbt.

2. 5 Kontrastierung

Zur Kontrastierung wurden die auf den befilmten Kupfernetzen haftenden Dünnschnitte in einer verschlossenen Petri-Schale auf einen Tropfen der jeweiligen Kontrastierungslösung gebracht und anschließend dreimal mit frisch abgekochtem

aqua bidest. gespült.

2. 51 Kontrastierung mit Bleihydroxid :

Zur Kontrastierung wurde eine nach KARNOVSKY (24) hergestellte $Pb(OH)_4$ - Stammlösung im Verhältnis 1 : 1oo mit frisch abgekochtem aqua bidest. verdünnt und 15 Minuten bei 2ooo Umdrehungen pro Minute zentrifugiert.
Kontrastierungsdauer : 15 Minuten

2. 52 Kontrastierung mit Bleicitrat :

1,33 g Bleicitrat und 1,76 g Natriumcitrat wurden in 3o ml aqua dest. gelöst, 1 Minute geschüttelt und 3o Minuten stehen gelassen (Methode n. REYNOLDS (41) . Anschließend wurde das Gemisch mit 8 ml 1 n NaOH und aqua dest. auf 5o ml aufgefüllt und zentrifugiert.
Kontrastierungsdauer : 17 Minuten.

2. 53 Kontrastierung mit Uranylacetat:

Zur Kontrastierung diente eine halbgesättigte wässrige Uranylacetat-Lösung (ungefär 2,5 %; pH ca. 5,o).
Kontrastierungsdauer : 2o Minuten
3o Minuten

2. 54 Kontrastierung mit Uranylacetat und Bleicitrat :

Die Dünnschnitte wurden in der oben beschriebenen Art und Weise zunächst mit Uranylacetat und anschließend mit Bleicitrat kontrastiert.
Kontrastierungsdauer : 2o Minuten Uranylacetat
17 Minuten Bleicitrat

2. 6 Elektronenmikroskopischer Untersuchungsgang

Zur elektronenmikroskopischen Untersuchung wurde das SIEMENS ELMISKOP I bei 8o KV verwendet. Die Serienaufnahmen wurden bei einer Primärvergrößerung von 4 6oo fach, Detailauf-

nahmen bei einer Primärvergrößerung von 1o ooo fach gemacht. Größere Übersichten wurden unter Verwendung des Projektiv - Polschuh I hergestellt.

2. 7 Herstellung von Photomontagen

Um den topographischen Zusammenhang des untersuchten Gewebes elektronenmikroskopisch darzustellen, war es notwendig, zahlreiche Einzelaufnahmen zusammenzufügen. Um einerseits eine größere Anzahl von Zellen im einzelnen Bildfeld aufnehmen zu können und andererseits mit einer hinreichenden Vergrößerung zu arbeiten, die eine Interpretation wesentlicher Zellorganellen gewährleistet, wurde am Gerät eine Primärvergrößerung von 4 6oo fach und eine Nachvergrößerung von 1,5 fach gewählt. Beim Durchphotographieren möglichst einer ganzen Kupfernetzmasche war darauf zu achten, daß sich benachbarte Aufnahmen überlappten, um die Kontinuität des Gewebes auf der Bildmontage zu garantieren. Mehrfach war es möglich, auf diese Weise mehrere nebeneinanderliegende Maschen, die von einem einzigen Schnitt bedeckt waren, zu photographieren. So konnten bis zu 4o ooo $/um^2$ große Gewebsausschnitte im Zusammenhang dargestellt werden. Auf diese Weise erhielten wir 35 Einzelmontagen, durchschnittlich aus 6o - 7o Aufnahmen bestehend und nach streng morphologischen Kriterien zusammengesetzt.

3. Ergebnisse

3. 1 Beschreibung der Lymphknotenfeinstruktur

Die vorliegende Untersuchung richtet sich auf zwei morphologisch abgrenzbare Anteile des Lymphknotens: die Pulpa und die Sekundärknötchen.

3. 11 Histologie der Lymphknotenpulpa

Als Pulpa wird nach der allgemein gebräuchlichen Nomenklatur das diffus ausgebreitete lymphatische Gewebe in Rinde und Mark des Lymphknotens bezeichnet (s. LENNERT (26) . Im histologischen Bild setzt sich dieses Gewebe vorwiegend aus kleinen und mittelgroßen Lymphozyten zusammen. Außerdem enthält es vereinzelt große Lymphoblasten sowie regelmäßig Plasmazellen in wechselnder Zahl, unreife und phagozytierende Retikulumzellen, basophile Stammzellen (LENNERT (26) und gelegentlich Gewebsmastzellen (MAXIMOW (32) . Nach GRUNDMANN (19) u.a. sind die Zellen der plasmazellulären Reihe vielfach in Gruppen oder "Nestern" angeordnet und kommen besonders häufig in den hilusnahen Markabschnitten des Lymphknotens vor. Die Intermediärsinus, die die Pulpa durchziehen, haben normalerweise enge Lumina. Sie werden von Uferzellen ausgekleidet, haben keine Basalmembran und enthalten gelegentlich Retikulumzellen, die in der Lichtung "ausgespannt" sind (LENNERT (26) .

3.111 Ultrastruktur der Pulpazellen

Der beherrschende Eindruck bei der Betrachtung elektronenmikroskopischer Aufnahmen ist die Polymorphie der in der Pulpa vorkommenden Zellen, die auch von anderen Autoren immer wieder hervorgehoben wurde. Unter Berücksichtigung der Ergebnisse von HAN (2o), BERNHARD und GRANBOULAN (8), BERNHARD und LEPLUS (1o), TANAKA (47), STOECKENIUS (46), LENNERT (26), ANDRE-SCHWARTZ (2) und BESSIS (11) soll zunächst eine kurze Beschreibung der von uns in der Pulpa

des Hundelymphknotens beobachteten Zelltypen gegeben werden.

3.1111 Retikulumzellen

Nach BERNHARD und GRANBOULAN (8) werden als Retikulumzellen alle sehr jungen und nicht differenzierten Mutterzellen aus Knochenmark, Milz und Lymphknoten bezeichnet. Unsere Untersuchungen lassen es zweckmäßig erscheinen, zwei Gruppen von Retikulumzellen zu unterscheiden: die nicht phagozytierende und die phagozytierende Retikulumzelle.

a.) Die nicht phagozytierende Retikulumzelle

Wie alle Retikulumzellen ist sie durch zahlreiche vielgestaltige längliche Cytoplasmafortsätze gekennzeichnet, die sich mit den cytoplasmatischen Ausläufern der benachbarten Zellen stark verzahnen (vergl. HAN (2o) . Die Zellmembran ist im Schnitt undeutlich dargestellt. Das Cytoplasma ist kaum differenziert. Die Zelle enthält wenige Mitochondrien, die meistens klein sind in Relation zur Zellgröße und jeweils nur einige unregelmäßig angeordnete Cristae aufweisen. Gelegentlich sind kurze Abschnitte eines endoplasmatischen Retikulums von variabler Weite zu beobachten. Relativ wenige freie Ribosomen sind regellos im Cytoplasma verteilt. Der Kern hat meistens eine ovale Form und zeigt gelegentlich flache Kernbuchten. Sein Volumen ist groß in Relation zum Cytoplasma. Das homogen verteilte, nur in einem schmalen Randsaum akkumulierte Chromatin und der kleine, häufig angeschnittene, mittelständige oder auch der inneren Kernmembran anliegende Nucleolus lassen eine geringe Kernstoffwechselaktivität dieser Zellen vermuten. Ihre Gesamtgröße entspricht etwa der mittelgroßer Lymphozyten (Abb. I).

Daneben kommen auch größere nicht phagozytierende Retikulumzellen vor, und zwar erscheint das Cytoplasmavolumen stärker vermehrt als das Kernvolumen. Die Mitochondrien haben an Zahl und Größe zugenommen. Die ergastoplasmatischen Membranen sind stärker entwickelt, und die zahlreichen Ribosomen

sind gelegentlich zu rosettenförmigen Polysomen angeordnet. Ab und zu sind ein spärlich entwickelter Golgi-Apparat und membranumschlossene dichte, offenbar lysosomale Körperchen zu beobachten. Der Kern erscheint abgerundeter. Sein Chromatin ist an der inneren Kernmembran angesammelt, jedoch nicht so regelmäßig angeordnet wie bei den Lymphozyten. Häufig ist ein mittelgroßer zentraler Nucleolus angeschnitten.

b.) Die phagozytierende Retikulumzelle

Die phagozytierenden Retikulumzellen sind durch zwei Merkmale von den oben beschriebenen Formen abgrenzbar: einerseits durch den reichlichen Gehalt an phagozytierten Zellfragmenten (s. auch FRESEN und WELLENSIEK (18) und HAN (2o) , die regelmäßig von einer cytoplasmatischen Membran umhüllt sind, andererseits durch die unregelmäßige Kerngestalt. Diese beruht auf rundlichen oder auch annähernd eckigen, manchmal geradezu flächenhaften Vorwölbungen bzw. Eindellungen der Kernhülle. Dadurch erhält der insgesamt rund erscheinende Kern einen für diese Zellform charakteristischen bizarren Ausdruck. Das Kernchromatin ist ähnlich wie bei den nicht phagozytierenden Retikulumzellen angeordnet (Abb. II).

3.1112 Hämocytoblasten

Dieser Zelltyp wurde lichtmikroskopisch bereits 1927 von MAXIMOW (32) als eine undifferenzierte, pluripotente Zellform beschrieben. LENNERT (26), BERNHARD und LEPLUS (1o) und ANDRE-SCHWARTZ (2) vermuteten aufgrund ihrer morphologischen Befunde, daß sich diese Zelle aus der großen "blastischen" oder "aktivierten" Retikulumzelle entwickelt. Der Hämocytoblast kommt sowohl in der Pulpa als auch in den Keimzentren (FLEMMING (17), LENNERT (26) der Sekundärknötchen vor. Da wir in Übereinstimmung mit den neueren Untersuchungen von MORI und LENNERT (35) keinen ortsabhängigen Unterschied in der Ultrastruktur feststellen konnten, be-

zeichnen wir diesen Zelltyp unabhängig von der topographischen Lage als Hämocytoblasten und sehen ihn als die "basophile Stammzelle" nach LENNERT (26) an. Der Hämocytoblast ist sehr groß, meist voluminöser als die größere nicht phagozytierende Retikulumzelle. Ein breiter Cytoplasmagürtel, der im Gegensatz zu den Verhältnissen bei den Retikulumzellen kaum Ausläufer aufweist, umgibt den zentral gelegenen runden bis ovalen Kern, der gelegentlich im Schnittbild eine unregelmäßig verlaufende Invagination aufweist. Das Chromatin des Interphasenkerns ist gleichmäßig locker im Kern verteilt, zum Teil haftet es in wenigen großen elektronendichten Aggregaten an der inneren Kernmembran. Diese peripheren Anhäufungen nehmen mit wachsendem Zellvolumen ab. Der Nucleolus ist außergewöhnlich groß, bei voluminösen Zellen häufig in der Kernperipherie gelegen. Das Cytoplasma ist gekennzeichnet durch seinen Reichtum an Polyribosomen, deren rosetten- und zickzackförmige Anordnung deutlich zu erkennen ist. Im Verhältnis zum Cytoplasmavolumen findet sich wenig endoplasmatisches Retikulum. Es ist glatt oder nur unregelmäßig mit Ribosomen besetzt. Zusammen mit den mäßig zahlreichen Mitochondrien ist es häufig nur an einem Zellpol ausgebildet. Die Mitochondrien sind groß mit heller Matrix und verfügen kaum über Cristae. Lysosomen sind nicht zu beobachten, der Golgi-Apparat ist spärlich entwickelt (Abb. III).

3.1113 Lymphatische Zellen

Während in Untersuchungen von BERNHARD und LEPLUS (1o), BERNHARD, HAGUENAU und LEPLUS (9) und HAN (2o) noch zwischen Lymphoblasten und kleinen älteren Lymphozyten differenziert wurde, neigt man heute dazu, diese Bezeichnungen, die über die Deskription morphologischer Phänomene hinausgehen und deren Interpretationsgehalt in neueren Untersuchungen nicht bestätigt werden konnte, nicht mehr zu verwenden. Wir möchten uns den Autoren anschließen (z. B. MORI und LENNERT (35) , die keine strenge Einteilung unter den als Lymphozyten zu klassifizierenden Zellen vornehmen, zumal bisher

ungeklärt ist, aus welchen Vorstufen der Lymphozyt sich entwickelt, und auch die vorliegenden Untersuchungen keine Klärung dieser Frage ermöglichen.

Die größten der lymphatischen Zellen, die den von BERNHARD und LEPLUS (1o) und HAN (2o) als Lymphoblasten bezeichneten Zellen entsprechen, sind kleiner als die größeren Retikulumzellen, wobei die Relation von Kern- zu Cytoplasmavolumen zugunsten des Kernes verschoben ist. Der Nucleus ist rund mit flachen Cytoplasmainvaginationen. Das Chromatin ist peripher angehäuft ("membranständiges Chromatin"), und zwar sind die elektronendichten Aggregate in regelmäßigeren Abständen an der inneren Kernmembran angelagert als bei den Hämocytoblasten. Das homogene Interchromatin erscheint elektronendichter als das der Retikulumzellen. In der Mehrzahl der in der Äquatorialebene dargestellten Lymphozyten ist ein großer mittel- oder randständiger Nucleolus angeschnitten. Die Zelle enthält mäßig viele Mitochondrien, die rund um den Kern herum verteilt sind, jedoch die Tendenz zu einseitiger Anhäufung zeigen. Sie sind dunkler und kleiner als die der Retikulumzellen und lassen deutlich parallel verlaufende Cristae erkennen. Hin und wieder sind ein oder zwei Zentriolen angeschnitten. Der Golgi-Apparat, bestehend aus vielen kleinen Vakuolen und kurzen parallelen Membranen, ist meistens vorhanden, jedoch nie besonders stark ausgeprägt. Das Cytoplasma enthält einige Ribosomen, die teils frei, teils als Polysomen verteilt sind (Abb. IV).

Je kleiner die lymphatischen Zellen sind, desto kontrastreicher stellen sich sowohl die cytoplasmatische Grundsubstanz als auch das Interchromatin dar. Das Cytoplasma nimmt stärker an Volumen ab als der Kern. Meistens ist es polar angeordnet, so daß es auf der gegenüberliegenden Seite nur noch als ein schmaler Saum erscheint. Die Mitochondrien, die hier fast ausschließlich am cytoplasmareichen Pol angeordnet sind, sind kleiner und elektronendichter. Sie besitzen sehr deutliche Cristae. Zentriolen sind auch in diesen Zellen zu beobachten. Das Cytoplasma erscheint insgesamt organellenärmer. Es

enthält wenige Ribosomen, keine Polysomen und kein endoplasmatisches Retikulum.
Der Kern zeigt auffallend zahlreiche Cytoplasmainvaginationen, die gelegentlich bis zur Kernmitte eindringen (Abb. IV). Die Plasmataschen enthalten oftmals ein Mitochondrium und sind meistens an der dem cytoplasmatischen Zellpol zugewandten Kernseite zu finden. Auffallend häufig ist ein kleiner Nucleolus im Schnitt getroffen, der im Gegensatz zu den Untersuchungen von GRUNDMANN (19) auch in Pulpalymphocyten in zentraler Lage zu sehen ist.
Schließlich finden sich in Pulpa und Keimzentren sehr kleine elektronendichte offenbar pyknotische Zellen, die ebenfalls den Lymphozyten zuzuordnen sein dürften. Sie zeigen ein extrem elektronenundurchlässiges Cyto- und Karyoplasma, so daß sie bei der üblichen Darstellungsmethode als fast schwarze Zellen in einer helleren Umgebung erscheinen. Die cytoplasmatischen Ausläufer sind auffallend lang und dünn ausgezogen und reichen oft weit zwischen die Nachbarzellen (Abb. VIII). Im äußerst schmalen Cytoplasmasaum ist nur noch die Struktur vereinzelter Mitochondrien zu erkennen. Der Kern enthält regelmäßig einen Nucleolus, dessen Substruktur sich wegen der elektronendichten Interchromatinsubstanz nicht darstellt.

3.1114 Plasmazellen

Die Plasmazelle ist die in der Literatur am ausführlichsten und am einheitlichsten beschriebene Zelle des lymphatischen Gewebes und somit auch des Lymphknotens. Unsere Untersuchungsergebnisse stimmen hier weitgehend mit denen von BRAUNSTEINER, FELLINGER und PAKESCH (13,14,15), HAN (2o), BESSIS (11), BERNHARD und GRANBOULAN (8) und BERNHARD und LEPLUS (1o) überein. Danach kann man bei der Reifung der Plasmazellen drei Stadien voneinander unterscheiden :

a.) Der Plasmoblast
Der Plasmoblast ist eine voluminöse Zelle mit einem großen runden mittelständigen Kern, der einen oder mehrere Nucleo-

len besitzt und dessen Chromatin regellos an der inneren Kernmembran und um die Nucleolen herum aggregiert ist. Das Cytoplasma enthält zahlreiche große Mitochondrien mit unregelmäßig ausgebildeten Cristae sowie auffallend viele Polysomen und zahlreiche kurze ergastoplasmatische Schläuche unterschiedlicher Weite, die unregelmäßig mit Ribosomen besetzt sind (Abb. V).

b.) Die Proplasmazelle
Die Proplasmazelle hat bereits einen leicht exzentrisch gelagerten Kern, dessen Chromatin stärker an der Kernhülle kondensiert ist. Das endoplasmatische Retikulum ist vermehrt, seine Membranen verlaufen parallel zur Kernoberfläche. In diesem Stadium sind die Zisternen meistens lang und flach mit hellem wolkigem Inhalt. Die Membranen des endoplasmatischen Retikulums sind regelmäßig mit Ribosomen besetzt; im übrigen Cytoplasma finden sich reichlich Polysomen. Die Mitochondrien sind kleiner, weniger zahlreich und haben einen regelmäßigeren Cristaverlauf als bei a.) (Abb. VI).

c.) Die reife Plasmazelle
Das Cytoplasma wird vollständig von einem rauhen endoplasmatischen Retikulum ausgefüllt. Die Zisternen sind weit und enthalten eine homogene, mäßig elektronendichte Substanz. Das Golgi-Feld ist stark vergrößert und besteht aus parallelen glatten Membranen, die häufig in Form eines Halbkreises um kleinere und größere Bläschen mit einem elektronendichten Inhalt gelagert sind, sowie aus zahlreichen Vakuolen unterschiedlicher Größe. Der Kern liegt deutlich exzentrisch, seine Chromatinverteilung entspricht der lichtoptisch beobachteten Radspeichenstruktur (Abb. VII).
Für ältere Zellstadien ist die Dilatation der Zisternen des Ergastoplasma charakteristisch, in denen es unter Umständen dann zur Eiweißausfällung in Form der bekannten "Russel'schen Körper" kommt.

3.1115 Die Topographie der Zellen in der Pulpa

Anhand unseres Untersuchungsmaterials läßt sich sagen, daß die Pulpa des "normalen" Hundelymphknotens aus einem Verband vielfältiger Zellarten mit Überwiegen des lymphatischen Anteils besteht. In diesem Grundgewebe sind gelegentlich Inseln von Plasmazellen anzutreffen (Abb. VII). In der Anordnung der Zellen des Pulpagewebes lassen sich keine Gesetzmäßigkeiten erkennen. Zwischen den lymphatischen Zellen, die in allen Entwicklungsstufen vorkommen, liegen in diffuser Verteilung zahlreiche nicht phagozytierende und wenige phagozytierende Retikulumzellen. Außerdem finden sich Plasmazellen, die häufig in kleinen Gruppen von 2 bis 6 Zellen zu beobachten sind, und in sehr geringer Zahl Mastzellen und ausgewanderte Granulozyten. Hämocytoblasten verschiedener Reifungsstadien sind an einigen Pulpaausschnitten gehäuft, an anderen nur in geringer Zahl zu beobachten.
Gelegentlich sind Hämocytoblasten in verschiedenen Stadien der Mitose anzutreffen. In der Prophase ist ihr Cytoplasma reichlich mit Polysomen angefüllt, im Kern ist das Chromatin locker um den auffällig großen, zentralen Nucleolus verteilt, und die Kernhülle liegt frei. In der Meta- und Anaphase nimmt die Kondensation des Chromatine in Kernmitte zu. Die Telophase zeigt, entsprechend den Befunden von MURRAY, MURRAY und PIZZO (38), ein bipolares Auseinanderweichen des Chromatin bei Verlust der Kernhülle (Abb. IX). Den größten Teil der Zellen der lymphatischen Reihe nehmen mittelgroße Formen ein. Wie oben beschrieben, enthalten diese Zellen meistens einen kleinen zentralen oder randständigen Nucleol us.
Die kleinen, sehr dunklen Lymphocyten mit äußerst reduziertem Cytoplasmasaum sind mit ihren langen Cytoplasmaausläufern oft untereinander und mit den Zellen der Nachbarschaft stark verzahnt.
Die Plasmazellgruppen lassen sich gut von der übrigen Pulpa abgrenzen. Innerhalb dieser Gruppen dominiert immer ein bestimmtes Reifestadium. Inmitten der Plasmazellen liegen gelegentlich kleine und mittelgroße Lymphozyten oder einige unreife Retikulumzellen, die auch von THIERY (48) beschrie-

ben wurden (Abb. VII). Ferner kommen reichlich phagozytoseaktive Retikulumzellen in ihrer Nähe vor, die in ihrem Cytoplasma zahlreiche polymorphe Zellfragmente enthalten. Wie zu erwarten, fanden sich in diesen Pulpabereichen viele Kapillaren (Abb. VIII, s. THIERY (48) .

3.12 Histologie der Sekundärknötchen

Nach der Definition von ASCHOFF (3) werden als Sekundärknötchen die Keimzentren mit ihrem Lymphozytenwall bezeichnet. Sie sind unregelmäßig vorkommende und verteilte Gebilde, von denen jedes einzelne unterschiedlichen zytoblastischen Bedingungen unterworfen ist, so daß in einem "normalen" Lymphknoten gleichzeitig Sekundärknötchen in unterschiedlichem Funktionszustand vorkommen.
Nach der lichtmikroskopischen Beschreibung von MAXIMOW (32), GRUNDMANN (19), LENNERT (26), LENNERT, CAESAR und MÜLLER (27) und BARGMANN (5) enthalten die Keimzentren unter anderem große Retikulumzellen mit und ohne Kerntrümmerphagozytose. Die bläschenförmigen Kerne sind schwach anfärbbar und haben große blasse Nucleolen. Freie oder phagozytierte Zellfragmente entsprechen den "tingible bodies". Auffallend sind außerdem die lichtmikroskopisch gut zu identifizierenden Germinoblasten (LENNERT (26) und eine Gruppe von mittelgroßen Zellen mit polymorphen Kernen und gering basophilem, etwas schmalerem Cytoplasma, die MAXIMOW (32) als undifferenzierte Retikulumzellen oder aber als Mesolymphozyten klassifiziert. Von LENNERT (26) werden sie als kleine und mittelgroße Germinoblasten bezeichnet. Kleine Lymphozyten sind selten im Keimzentrum anzutreffen, große dagegen häufiger. Die Beobachtung von Plasmazellen im Keimzentrum wird von MAXIMOW (32) bejaht, von GRUNDMANN (19) verneint.
Der Randwall des Sekundärknötchens besteht fast ausschließlich aus kleinen Lymphozyten. Hier sind lichtmikroskopisch auch regelmäßig kleine Kapillaren zu beobachten.

3.121 Ultrastruktur der Sekundärknötchen

In dem von uns bearbeiteten Material fanden wir unterschiedliche Sekundärknötchen: Einerseits wurden solche mit schroffem Übergang vom Lymphozytenwall zum Keimzentrum beobachtet. Hier finden sich im Zentrum vorwiegend Germinoblasten und Germinozyten mit reichlich Polyribosomen und wenig rauhem endoplasmatischem Retikulum (Abb. X). Diese Zellen unterscheiden sich deutlich von den genannten lymphatischen Zellen. Sie entsprechen den von MORI und LENNERT (35) beschriebenen Germinoblasten. Größtenteils liegen sie im Interphasenzustand vor, nur gelegentlich auch in den verschiedenen Mitosestadien (s. o.). Zwischen den Germinoblasten und Germinozyten liegen phagozytoseaktive Retikulumzellen; Äquivalente zu den "tingible bodies" sind gelegentlich zu finden. In geringer Zahl sind außerdem nicht phagozytierende Retikulumzellen, größere und kleinere Lymphozyten und auch besonders elektronendichte kleine Lymphozyten zu beobachten.
Andererseits waren Keimzentren zu sehen, in denen sich der Übergang vom Lymphozytenwall zum Zentrum hin eher fließend darstellte. Auch hier enthält das Keimzentrum vorwiegend große Germinoblasten, daneben jedoch auch zahlreiche größere Lymphozyten.

Der Lymphozytenwall besteht hingegen ohne Unterschied überwiegend aus kleinen und mittelgroßen Lymphozyten (Abb. XI) sowie einigen größeren Lymphozyten, Hämocytoblasten und nicht phagozytierenden Retikulumzellen. Vereinzelt werden auch Plasmazellvorstufen angetroffen.
Zum Keimzentrum hin nimmt der Anteil an größeren Lymphozyten zu. Die Lymphozyten unterscheiden sich weder in der Ultrastruktur des Kernes noch des Cytoplasma von den Pulpalymphozyten (s. GRUNDMANN (19) . Am Rande des Lymphozytenwalles treten gehäuft große und kleine Kapillaren und Sinus auf, die parallel zur Oberfläche des Sekundärknötchens zu verlaufen scheinen.

3. 2 Verwendung unterschiedlicher Kontrastierungsmittel bei Glutaraldehydfixierung

Bei der Beurteilung von Lymphknotenzellen interessieren u. a. eine Substanzanalyse der Zellkernkomponenten und die Topographie nukleoproteidtragender Zellstrukturen.

Wie Untersuchungen von MARINOZZI und GAUTIER (3o) und MARINOZZI (31) zeigten, wird bei der üblichen Fixierung mit Glutaraldehyd und Osmiumtetroxid das Gewebe derart vorkontrastiert, daß eine nachfolgende Behandlung mit verschiedenen Kontrastierungslösungen keinen substanzspezifischen Unterschied in der Elektronendichte DNA- und RNA-haltiger Zellbestandteile mehr bewirkt. Daher erschien es sinnvoll, bei ausschließlicher Glutaraldehydfixierung die Eignung verschiedener Kontrastierungsmethoden zur selektiven Darstellung insbesondere der nukleoproteidtragenden Strukturen zu prüfen.

Im nachfolgenden Abschnitt werden die Ergebnisse verschiedener Nachkontrastierungen bei Glutaraldehydfixierung dargestellt.

3.21 Kontrastierung mit Bleihydroxid

Entsprechend den Beobachtungen von SABATINI, BENSCH, MILLER und BARRNETT (6, 43, 44, 45) und PFAB (4o) erhielten wir bei Anwendung dieser Technik folgende Resultate:
Die cytoplasmatischen Membranen stellen sich nicht dar. Lediglich die innere Kernmembran erscheint gelegentlich kontrastiert. Die Mitochondrien sind verwaschen in ihren Umrissen zu erkennen. Als besonders kontrastreich fallen die Ribosomen auf, die vor allem in Plasmazellen durch ihre perlschnurartige Anordnung den Verlauf der Ergastoplasmamembranen markieren. Das Golgifeld stellt sich als unstrukturiertes ribosomenfreies helles Gebiet dar. Das Chromatin erscheint gebleicht, und zwischen einzelnen Abschnitten des peripheren Chromatinsaumes sind einzelne eine mäßig elektronen-

durchlässige homogen erscheinende Substanz enthaltende "Kanälchen" zu erkennen, die in die Kernporen zu münden scheinen. Der Inhalt der Ergastoplasmaschläuche sowie auch der perinucleären Zisternen stellt sich als eine fein granulierte Substanz dar, deren Kontrast dem der Interchromatinsubstanz entspricht. Der Nucleolus hebt sich bei dieser Technik durch seine starke Elektronendichte hervor. Seine Substruktur ist gut zu erkennen. Er ist stets von einem hellen Ring umgeben, der dem nicht kontrastierten Chromatinring entspricht. Gelegentlich kann man in der Schnittfläche des Nucleolus wenig kontrastreiche bandförmige Gebilde beobachten, die beidseits von elektronendichten Strukturen begrenzt sind. Die Interchromatinsubstanz erscheint mäßig elektronendicht (Abb. XII).

3.22 Kontrastierung mit Bleicitrat

Die Kontrastverteilung der nukleinsäuretragenden Gewebskomponenten entspricht dem Resultat bei der Bleihydroxidkontrastierung, jedoch erscheint das Chromatin elektronendichter. Es ist locker, flockig strukturiert und wird von mäßig kontrastreicher Interchromatinsubstanz umgeben, die an manchen Stellen zu auffallend elektronendichten Wolken zusammengeballt ist. Die Fläche, die von der Interchromatinsubstanz ausgefüllt ist, erscheint gegenüber den Beobachtungen bei der Bleihydroxid-Kontrastierung vermindert; es hat den Anschein, als sei die zwischen den Chromatinansammlungen gelegene Substanz in etwas kontrastreicheren "Wolken" zusammengezogen. Typische Sphäridien, wie sie HORSTMANN (21), HORSTMANN, RICHTER und ROOSEN-RUNGE (22), RUPEC und HOFFMEISTER (42), MONNERON und BERNHARD (34) und ALTMANN und PFEIFER (1) beschreiben, konnten nicht nachgewiesen werden.
Wie bei Anwendung der Bleihydroxid-Kontrastierung stellen sich auch hier im marginalen Chromatin häufig kontrastreiche "Kanäle" dar, die in Kernporen münden und dort möglicherweise frei mit dem Cytoplasma kommunizieren. Die Interchromatinsubstanz erscheint wolkig-locker, teilweise fibrillär-netz-

artig strukturiert. Der Nucleolus ist bei dieser Methode nicht sicher zu identifizieren. Die Ribosomen sind kontrastintensiv, der Inhalt der ergastoplasmatischen Schläuche ist homogen, die cytoplasmatischen Membranen gelangen nicht zur Darstellung. Im Vergleich zur Bleihydroxid-Kontrastierung ist der Kontrastunterschied zwischen DNA- und RNA-haltigen Strukturen geringer (Abb. XIII).

3.23 Kontrastierung mit Uranylacetat

In Übereinstimmung mit den im gleichen Arbeitskreis von PFAB (4o) durchgeführten Untersuchungen ergab die Anwendung der Uranylacetat-Kontrastierung folgendes Resultat: Alle nukleoproteidtragenden Strukturen erscheinen verstärkt kontrastiert. Dabei stellt sich das Chromatin, das wie bei den beiden beschriebenen Bleikontrastierungen als Randsaum entlang der Kernmembran und in Form von unregelmäßig im Kerninneren sowie perinucleolär verteilten elektronendurchlässigen Aggregaten zu sehen ist, wesentlich kontrastreicher als die anderen Kernkomponenten dar. Die Kontrastverteilung im Kern ist bei diesem Kontrastierungsverfahren also genau umgekehrt. Nucleolus und Chromatin erscheinen homogen, nur gelegentlich sind in den peripheren Chromatinanhäufungen feine flächige Aufhellungen zu erkennen. Die Interchromatinsubstanz ist bei dieser Methode relativ elektronendurchlässig und zeigt eine wabige Anordnung. Gut erkennbar sind die Verhältnisse im Bereich der Kernporen: entsprechend den Beobachtungen bei der Bleihydroxid-Kontrastierung führen kleine Kanäle durch das dunkle Chromatin in Richtung auf die Kernporen hin. Innerhalb solcher Kernporen konnten wir übereinstimmend mit den Ergebnissen von BANNASCH und THOENES (4) sowie MONNERON und BERNHARD (34) niemals größere Granula beobachten. Mitochondrien und der Golgi-Apparat sind nur schemenhaft zu sehen, da wegen der fehlenden Osmiumnachfixierung die cytoplasmatischen Membranen nicht zur Darstellung gelangen. Hingegen sind die Ribosomen wie bei den vorigen Kontrastierungsverfahren stark kontrastiert (Abb. XIV).

3.24 Kontrastierung mit Uranylacetat und Bleicitrat

Bei Anwendung dieser Technik findet man eine Kombination der Ergebnisse der Uranyl- und der Bleikontrastierung. Alle nukleinsäuretragenden Komponenten sind kontrastreich dargestellt. Das Chromatin erscheint homogen. In dem netzartigen lockeren Gefüge der Interchromatinsubstanz fallen die schon bei der Bleicitrat-Kontrastierung beschriebenen wolkigen Verdichtungen auf. Vereinzelt sind Perichromatingranula in Plasmazellen (MONNERON und BERNHARD (34) zu beobachten. Der Nucleolus wird ausgesprochen prominent; wegen seiner hohen elektronenoptischen Dichte ist seine Substruktur nicht zu erkennen. Die cytoplasmatischen Membranen sind wie bei den vorigen Verfahren nicht dargestellt, jedoch ist - besonders bei den großen Golgifeldern der Plasmazellen - ihr Verlauf häufig dadurch angedeutet, daß die umgebende cytoplasmatische Grundsubstanz und der Zisterneninhalt kontrastreich erscheinen und die Membranen somit als optisch leere Linien ausgespart bleiben (Abb. XV).

4. Diskussion

Die Ultrastruktur der einzelnen im Lymphknoten vorkommenden Zelltypen ist von BRAUNSTEINER, FELLINGER und PAKESCH (14, 15), BERNHARD und GRANBOULAN (8), BERNHARD und LEPLUS (1o), FRESEN und WELLENSIEK (18), LENNERT, CAESAR und MÜLLER (27), STOECKENIUS (46), MOVAT und FERNANDO (36) und MURRAY, MURRAY und PIZZO (37) ausführlich beschrieben worden. In der vorliegenden Arbeit wurde Wert darauf gelegt, die Lagebeziehung der Zellen des "normalen" Hunde-Lymphknotens im elektronenmikroskopischen Bild darzustellen. Mit Hilfe der unter lichtmikroskopischer Kontrolle bei Berücksichtigung der topographischen Zusammenhänge erfolgten Präparation unter Verwendung von Bildmontagen war es möglich, eine Übersicht über die in der Pulpa und im Sekundärknötchen vorkommenden Zellen und ihre Feinstruktur zu gewinnen.

Während bei der lichtmikroskopischen Betrachtung die Pulpa überwiegend aus lymphatischen Zellen zu bestehen scheint und sich ein dementsprechend eintöniges Bild ergibt, kommen bei der elektronenmikroskopischen Aufnahme die starken ultrastrukturellen Unterschiede der Zelltypen zur Darstellung, so daß hier der Eindruck einer außerordentlichen Vielfältigkeit der Pulpazellen entsteht.

Übereinstimmend mit den Untersuchungen, die BERNHARD und GRANBOULAN (8) an menschlichen Lymphknoten und HAN (2o) an Rattengewebe durchführten, kann gesagt werden, daß die Retikulumzelle im Lymphknoten des Hundes gekennzeichnet ist durch ihr regelloses Vorkommen, ihre Armut an Organellen und die diffuse Verteilung der Ribosomen. Der Nucleolus ist unauffällig (Abb. I). Diese Zelle wurde von BERNHARD und LEPLUS (1o) als "sleeping cell" bezeichnet. Ihr Vorkommen im Lymphknoten ist ubiquitär.
Andere nicht phagozytierende Retikulumzellen lassen eine stärker ausgeprägte Entwicklung der Zellorganellen, das ver-

mehrte Auftreten aggregierter Ribosomen und eine Zunahme an kondensiertem Kernchromatin erkennen und somit möglicherweise auf eine Aktivierung schließen.

Die Beobachtung von BERNHARD und GRANBOULAN (8), daß die Mitochondrien in Retikulumzellen als große "geschwollene" Organellen mit kaum ausgebildeten Cristae bei sehr heller Matrix zur Darstellung kommen und damit den Mitochondrien in embryonalen Geweben verschiedener Herkunft vergleichbar seien, kann aufgrund des in der vorliegenden Arbeit untersuchten Materials nicht bestätigt werden.
Von den beobachteten Zellen im Zustand der Mitose war keine als aktivierte Retikulumzelle zu klassifizieren, so daß die Annahme der Autoren BERNHARD und GRANBOULAN (8) und HAN (2o), den Retikulumzellen komme die Funktion eines "Zellpools" zu, nicht unterstützt werden kann.

Phagozytierende Retikulumzellen mit außergewöhnlich großem Gehalt an Zellfragmenten waren vermehrt in der Nachbarschaft von Kapillaren und Sinus zu beobachten (Abb. VIII), eine Tatsache, die die Beteiligung dieser Zelle an der Klärfunktion des Lymphknotens möglich erscheinen läßt, ohne daß jedoch mit der hier angewandten elektronenmikroskopischen Darstellungsmethode die Herkunft der Zelltrümmer geklärt werden kann.

Das elektronenmikroskopische Bild des Hämocytoblasten ist charakterisiert durch seinen Reichtum an Polyribosomen und die Größe des Nucleolus. Diese beiden Merkmale weisen auf eine verstärkte Syntheseleistung für den zelleigenen Bedarf hin. Die gequollenen Mitochondrien sind mit denen embryonaler Zellen zu vergleichen (Abb. III).

Es sei ferner auf Gemeinsamkeiten hingewiesen, die zwischen dem Hämocytoblasten des in der vorliegenden Arbeit untersuchten Materials und einer von LA VIA, VATTER, CLAMAN und BRUNSTETTER (25) beschriebenen blastischen Zellform besteht,

die bei in vitro-Versuchen mit Kulturen kleiner Lymphozyten nach 9o-stündiger Inkubation mit Phytohemagglutinin (PHA) oder horse antihuman splenocyte immunoglobulin (HAHS-Ig) zu beobachten sind :
Ein Querschnitt dieser Zellen übertrifft den der kleinen Lymphozyten um etwa das vierfache; der Zellkern ist vergrößert; er enthält locker verteiltes Chromatin und einen prominenten voluminösen Nucleolus; das Cytoplasma enthält zahlreiche Polysomen; das endoplasmatische Retikulum nimmt zu; die Mitochondrien sind deutlich größer als die der kleinen Lymphozyten.

Eine weitgehende Übereinstimmung in der Ultrastruktur dieser "blastischen" Zellform und des Hämocytoblasten ist evident, jedoch bietet die hier verwandte Untersuchungsanordnung keine hinreichende Grundlage für eine Interpretation dieses Phänomens.

Bei der Beschreibung der lymphatischen Zellen wurde im Gegensatz zu den Darstellungen von BERNHARD und LEPLUS (1o) und HAN (2o) keine Unterteilung in Lymphoblasten und Lymphozyten vorgenommen, da es uns unzulässig erschien, auf der Basis der morphologischen Betrachtung durch Verwendung eines Begriffes wie "Lymphoblast" eine Entwicklungsrichtung zu postulieren. Die lymphatischen Zellen kommen sowohl in der Pulpa als auch im Keimzentrum vor. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen von BERNHARD und GRANBOULAN (8) ist hervorzuheben, daß alle den Lymphozyten zuzuordnenden Zellen ein gemeinsames Kennzeichen aufweisen: einen schmalen Cytoplasmasaum bei relativ großem Kernvolumen und Reichtum an Kernchromatin.
Mit Hilfe der in der vorliegenden Untersuchung u.a. angewandten Methode der Uranylacetat- und Bleihydroxid-Kontrastierung nach Glutaraldehydfixierung, die eine Differenzierung zwischen DNS- und RNS-tragenden Strukturen ermöglicht, läßt sich eindeutig feststellen, daß die hohe Dichte des Kernchromatin auf dessen ganz überwiegenden Gehalt an DNS zurückzuführen ist.

Wie bei allen lymphatischen Zellen ist auch bei der oben beschriebenen auffälligen dunklen Form die polare Anordnung

des mitochondrienhaltigen Cytoplasmaanteils deutlich zu erkennen. Möglicherweise ist diese "Schwanzbildung" in Analogie zu setzen zu den Beobachtungen von McFARLAND (33), der die Ausbildung von sogenannten "uropods" bei menschlichen Lymphozyten in vitro während der immunologischen Reaktion beschreibt und sie als Ausdruck der Motilität deutet. Dieses und die Tatsache, daß die dunklen Lymphozyten häufig in der Nähe von Kapillaren liegen und gelegentlich engen Kontakt zur Basalmembran zeigen (Abb. VIII), lassen es denkbar erscheinen, daß diese Zellformen die Fähigkeit besitzen, entweder vom Kapillarstrom zur Pulpa oder in umgekehrter Richtung zu wandern. Als weiterer Hinweis für die Motilität der dunklen Lymphozyten kann eventuell die oben erwähnte perlschnurartige Anordnung gedeutet werden.

Die am höchsten spezialisierte Zelle des Lymphknotens ist die Plasmazelle, die auf Grund ihrer ultrastrukturellen Übereinstimmung mit den Zellen von Pankreas und Parotis als monozelluläre Drüse angesehen werden kann. Ihre Funktion der Synthese humoraler Antikörper ist heute allgemein anerkannt (DE PETRIS und KARLSBAD (39) . Das elektronenmikroskopische Bild der oben beschriebenen Plasmoblasten zeigt in mehrfacher Hinsicht Ähnlichkeit mit dem der als Hämocytoblasten benannten Zellen: beide Zellarten sind reich an Ribosomen, die nur als Polysomen oder an Membranen des endoplasmatischen Retikulums haftend vorkommen, und ihre "gequollenen" Mitochondrien sind nicht zu unterscheiden. Sowohl in der Pulpa als auch im Keimzentrum treten Zellen auf, die hinsichtlich ihrer cytoplasmatischen und nucleären Ultrastruktur zwischen beiden Zellen stehen.

Aufschlüsse über die Aktivität der verschiedenen Zelltypen kann man u.a. auf Grund der relativen Verteilung der DNA- und RNA-tragenden Strukturen erhalten. Wie oben erwähnt, wurde zur Untersuchung der nukleinsäurehaltigen Komponenten die einfache Fixierung mit Glutaraldehyd angewandt.
Da durch die Osmium-Fixierung das Gewebe vorkontrastiert wird und eine nachfolgende Behandlung mit verschiedenen Kon-

trastierungsmitteln keine wesentliche Veränderung der relativen Kontrastverteilung mehr bewirkt, ist die zur Identifizierung der einzelnen Zelltypen verwendete Doppelfixation mit Glutaraldehyd und Osmiumtetroxid (s.o.) nicht geeignet, substanzspezifische Unterschiede in der elektronenoptischen Dichte von Strukturelementen der Zelle darzustellen. Hingegen ist der Glutaraldehyd ein Fixierungsmittel, das eine quasi elektronenmikroskopische "Färbung" durch Nachkontrastierung mit Lösungen unterschiedlicher Affinität zu den einzelnen Strukturkomponenten ermöglicht.

In Übereinstimmung mit den Resultaten von SABATINI, BENSCH, MILLER und BARNETT (6, 43, 44, 45), BERNHARD (7) und PFAB (4o) zeigte sich bei Glutaraldehydfixierung und Uranylacetat- und / oder Bleinachkontrastierung, daß einerseits die zelluläre Feinstruktur optimal erhalten bleibt, andererseits jedoch die membranösen Bestandteile der Zelle nicht oder nur sehr schwach dargestellt werden, so daß diese Technik nicht zur Untersuchung von Zellorganellen geeignet ist. Sie ermöglicht indessen eine Differenzierung insbesondere der nukleoproteid-tragenden Zellbestandteile und bei geeigneter Kombination von Fixierungs- und Kontrastierungsmethoden eine Unterscheidung von DNA- und RNA-haltigen Strukturen. Auf Grund substanzabhängiger Unterschiede in der elektronenoptischen Dichte lassen sich Aussagen machen sowohl über die Topographie als auch über die Feinstruktur DNA- und RNA-haltiger Zellelemente.

Die angewendeten Fixierungs- und Kontrastierungskombinationen zeigten folgende Besonderheiten:

a) Glutaraldehyd - Bleihydroxid

Kennzeichen:
Selektive Färbung von RNA-tragenden Strukturen, Bleichung des Chromatin (Abb. XII).

Beurteilung :
Gute Darstellung des Nucleolus und seiner Ultrastruktur. Geeignet für Substanz- und Strukturanalyse RNA-haltiger Zellbestandteile.

b) Glutaraldehyd - Bleicitrat

Kennzeichen:

RNA-tragende Strukturen werden etwas stärker kontrastiert als das Chromatin, jedoch ist das Chromatin nicht so stark gebleicht wie bei a), so daß der Kontrastunterschied zwischen Chromatin und RNS-haltigen Elementen (Nucleolus, Ribosomen) geringer ist. Nucleolus nicht zu identifizieren. Ribosomen am elektronendichtesten.
Interchromatin von größerer Elektronendichte als Chromatin (Abb. XIII).

Beurteilung:
Wegen des geringen Kontrastunterschiedes nicht gut zur Differenzierung der beiden Nukleinsäuren geeignet. Keine Aufschlüsse über Nucleolarstruktur.

c) Glutaraldehyd- Uranylacetat

Kennzeichen:
Vermehrter Kontrast beider Nukleoproteide, DNA stärker als RNA kontrastiert. Kontrastunterschied gering (Abb. XIV).

Beurteilung:
Deutliche Darstellung aller Kernkomponenten, die auch morphologisch bzw. in ihrer Struktur gut erhalten sind. Geeignet zur Beobachtung der Vorgänge an Kernporen. Weniger geeignet für Substanzanalyse wegen geringen relativen Kontrastunterschiedes; gut geeignet für Strukturuntersuchungen.

d) Glutaraldehyd - Uranylacetat und Bleicitrat

Kennzeichen:
Starker Kontrast beider Kern-Komponenten (Abb. XV).

Beurteilung:
Gut geeignet zur Beschreibung DNA- und RNA-haltiger Zellelemente, da Struktur gut erhalten. Zur Substanzanalyse nicht geeignet.

Insgesamt ist darauf hinzuweisen, daß die angewendeten Fixierungs- und Kontrastierungsmethoden keine selektive, sondern nur eine bevorzugende ("prefering") "Färbung" bewirken (s. auch MONNERON und BERNHARD (34) .

5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde die Ultrastruktur des Hundelymphknotens untersucht mit dem Ziel, eine Übersicht über die Feinstruktur der in der Pulpa und in den Sekundärknötchen vorkommenden Zellen und ihrer topographischen Zusammenhänge zu gewinnen. Um die Lagebeziehung der Zellen untereinander beurteilen zu können, wurden mit Hilfe von Photomontagen größere Gewebsausschnitte dargestellt. Ergänzend wurden bei ausschließlicher Glutaraldehydfixierung verschiedene Kontrastierungsmittel geprüft, um ihre Eignung zur Darstellung der relativen Verteilung DNA- und RNA- haltiger Strukturen sowie ihrer Topographie und ihrer Feinstruktur zu ermitteln.

Hinsichtlich der in der Pulpa vorkommenden Zellen sind folgende Beobachtungen hervorzuheben:
Die nicht phagozytierende Retikulumzelle ist gekennzeichnet durch ihre Armut an Organellen, den kleinen Nucleolus und die Verzahnung der Cytoplasmafortsätze mit der Umgebung.
Von dieser Zelle unterscheidet sich die phagozytierende Retikulumzelle durch ihren Gehalt an membranumhüllten Zellfragmenten und ihre bizarre Kernform.
Der Hämocytoblast weist als Charakteristikum Merkmale der verstärkten Synthese für den zelleigenen Bedarf auf. Auffällig sind Gemeinsamkeiten zwischen dem Hämocytoblasten und einer blastischen Zellform, die sich aus Kulturen kleiner Lymphozyten nach Inkubation mit Phytohemagglutinin (PHA) und horse antihuman splenocyte immunoglobulin (HAHS-Ig) entwickelt, sowie das Vorkommen von Zellen, die Ähnlichkeit sowohl mit dem Hämocytoblasten als auch mit dem Plasmoblasten aufweisen.
Merkmale der lymphatischen Zellen sind ein schmaler Cytoplasmasaum bei großem Kernvolumen und Reichtum an Kernchromatin und spärlich entwickelte Organellen. Eine Entwicklungsrichtung läßt sich aus den Ergebnissen der vorliegenden morphologischen Untersuchung nicht ableiten.
Die Befunde hinsichtlich der Ultrastruktur der Plasmazellen stimmen mit denen aus der übrigen Literatur überein.

Bei der Betrachtung von Darstellungen größerer Gewebsausschnitte fällt die Polymorphie der Pulpazellen auf. In dem überwiegend aus lymphatischen Zellen bestehenden Grundgewebe ist keine Gesetzmäßigkeit in der Anordnung der Zellen zu erkennen. Die häufig beobachtete Nachbarschaft phagozytoseaktiver Retikulumzellen zu Kapillaren und Sinus wird als Hinweis auf eine mögliche Beteiligung dieser Zelle an der Klärfunktion des Lymphknotens gedeutet.
In den Keimzentren der Sekundärknötchen finden sich überwiegend Germinoblasten und Hämocytoblasten neben zahlreichen phagozytierenden Retikulumzellen und vereinzelten lymphatischen Zellen und unreifen Retikulumzellen. Hämocytoblasten in verschiedenen Stadien der Mitose kommen vor.
Der Übergang von Keimzentrum zum Lymphozytenwall stellt sich entweder fließend oder schroff dar. Am Aufbau des Randwalls sind hauptsächlich kleinere und mittelgroße lymphatische Zellen beteiligt.

Das Ergebnis der Prüfung verschiedener Kontrastierungsmittel läßt sich wie folgt zusammenfassen :
Die Bleihydroxid-Kontrastierung ermöglicht eine gute Substanz- und Strukturanalyse RNA-haltiger Zellbestandteile, insbesondere des Nucleolus, wohingegen die Bleicitrat-Kontrastierung sich wegen des geringen relativen Kontrastunterschiedes nicht zur Differenzierung DNA- und RNA-tragender Zellelemente eignet. Der Nucleolus ist bei dieser Methode nicht zu identifizieren.
Sowohl die Uranylacetat-Kontrastierung als auch die Doppel - kontrastierung mit Uranylacetat und Bleicitrat bieten gute Voraussetzungen für die Untersuchung der Ultrastruktur von nukleoproteidhaltigen Kernkomponenten; zur Substanzanalyse sind sie jedoch nicht geeignet.

6. Literaturverzeichnis

1. ALTMANN, W., PFEIFER, U.: Beitrag zur Kenntnis der Sphäridien ("nuclear bodies"). Fetthaltige Sphäridien nach partieller Hepatektomie. Virchows Arch. Abt. B. Zellpath. 2, 22o - 228 (1969).

2. ANDRE - SCHWARTZ, J.: The Morphologic Responses of the Lymphoid System to Homografts III. An Electron Microscopical Study, Blood 24, 113 - 133 (1964).

3. ASCHOFF, L.: Über die lymphatischen Organe. Verh. anat. Ges. (Jena) 46 (1938) in Erg.-H. zu Anat. Anz. 87, 152 - 179 (1938/39).

4. BANNASCH, P., W. THOENES : Zum Problem der nucleolären Stoffabgabe. Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Pankreas der weißen Maus. Z. Zellforsch. 67, 674 - 692 (1965).

5. BARGMANN, W.: Lymphgefäße und Lymphknoten. In: Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen, p. 274 - 284, Thieme, Stuttgart 1967, 6. Aufl..

6. BENSCH, K.G., D. SABATINI, R.J. BARRNETT : New Fixatives for Cytochemistry and Electron Microscopy. Proc. 51st Ann. Meet. Internat. Academ. Path. Montreal 1962.

7. BERNHARD, W.: A new Staining Procedure for Electron Microscopical Cytology. J. Ultrastruct. Res. 27, 25o - 265 (1969).

8. BERNHARD, W., N. GRANBOULAN: Ultrastructure of Immunologically Competent Cells. Cellular Aspects of Immunity. In: Ciba Foundation Symposion, p. 92 - 117. Little Brown and Co., Boston 196o.

9. BERNHARD, W., F. HAGUENAU, R. LEPLUS: Coupes ultrafines d'éléments sanguins et de ganglion lymphatique étudiées au microscope électronique. Rev. Hémat. 1o, 267 - 282 (1955).

1o. BERNHARD, W., R. LEPLUS: Structure fin du ganglion humain normal et malin. Pergamon Press Oxford, p. 31 - 58. Gauthiers-Villars Paris, MacMillan New York 1964.

11. BESSIS, M.G.: Ultrastructure of Lymphoid and Plasma Cells in Relation to Globulin and Antibody Formation. Lab. Invest. 1o, 1o4o - 1o67 (1961a).

12. BLOOM, W. : Lymphatic Tissue: Lymphatic Organs. In: Handbook of Hematology, p. 1427 - 1518. Ed. H. Lowney, Hoeber, New York 1938.

13. BRAUNSTEINER, H., K. FELLINGER, F. PAKESCH : Demonstration of Cytoplasmatic Structure in Plasma Cells. Blood 8, 916 - 922 (1953a).

14. BRAUNSTEINER, H., K. FELLINGER, F. PAKESCH : Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Plasmazellen im lymphoretikulären Gewebe. Dtsch. Arch. klin. Med. 2oo, 657 - 663 (1953b).

15. BRAUNSTEINER, H., K. FELLINGER, F. PAKESCH: Electron Microscopy and the Functional Significance of a new Cellular Structure in Plasmocytes. A Review. Blood 1o, 278 - 294 (1955).

16. EHRICH, W. : Studien über das lymphatische Gewebe mit besonderer Berücksichtigung der Lymphopoiese und der Histogenese der Sekundärknötchen, ihres Schicksals und ihrer Bedeutung. Beitr. path. Anat. 86, 287 - 368 (1931).

17. FLEMMING, W. : Studien über Regeneration der Gewebe I. Die Zellvermehrung in den Lymphdrüsen und verwandten Organen und Einfluß auf deren Bau. Arch. mikr. Anat. 24, 5o - 91 (1885).

18. FRESEN, O., H.J. WELLENSIEK: Zur elektronenmikroskopischen Struktur des Lymphknotens. Verh. dtsch. Ges. Path. 42, 359 - 365 (1965).

19. GRUNDMANN, E. : Die Bildung der Lymphozyten und Plasmazellen im lymphatischen Gewebe der Ratte. Beitr. path. Anat. CXIX, 217 - 262 (1958).

2o. HAN, S. S. : Ultrastructure of the Mesenteric Lymph Node of the Rat. Amer. J. Anat. 1o9, 183 - 225 (1961).

21. HORSTMANN, E. : Die Kerneinschlüsse im Nebenhodenepithel des Hundes. Z. Zellforsch. 65, 77o - 776 (1965).

22. HORSTMANN, E., R. RICHTER, E. ROOSEN-RUNGE: Zur Elektronenmikroskopie der Kerneinschlüsse im menschlichen Nebenhodenepithel. Z. Zellforsch. 69, 69 - 7o (1966).

23. JECKELN, E. : Experimentelle Untersuchungen über Umwandlungen und Bedeutung der Lymphknötchen. Beitr. path. Anat. 9o, 244 - 284 (1932-33).

24. KARNOVSKY, M. : Simple Methods for Staining with Lead at High pH in Electron Microscopy. J. biophys. biochem. Cytol. 11, 729 - 732 (1961).

25. LA VIA, M.F., A.E. VATTER, H.N. CLAMAN, F.H. BRUNSTETTER : Effects of Antilymphocyte Serum and Phyto-Hemagglutinin upon Cultures of Human Thymus and Peripheral Blood Lymphoid Cells. Lab. Invest. 18, 763 - 77o (1968).

26. LENNERT, K. : Cytologie und Lymphadenitis. In: Handb. spez. path. Anat. I/3A, p. 25 - 156, Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg (1961).

27. LENNERT, K., R. CAESAR, K. MÜLLER: Electron Microscopic Studies of Germinal Centers in Man. Exp. Hematol. 11, 49 - 59 (1966).

28. LUFT, J.H. : Permanganate. A new Fixative for Electron Microscopy. J. biophys. biochem. Cytol. 2, 799 - 8o2 (1956).

29. MADEMANN, R., G. SIEPMANN, W. KÜHNEL : Toluidinblaufärbung von Epon-Dünnschnitten. Mikroskopie 21, 29 - 31 (1966).

3o. MARINOZZI, V. : Cytochimie ultrastructurale de nucléole-RNA et protéines intranucléolaires. J. Ultrastr. Res. 1o, 433 - 456 (1964).

31. MARINOZZI, V., A. GAUTIER : Fixations et colorations des affinitées des composants nucléoprotéiniques pour l'hydroxyde de plomb et l'acétate d'uranyle. J. Ultrastr. Res. 7, 436 - 451 (1962).

32. MAXIMOW, A. : Bindegewebe und blutbildende Gewebe. In: Handb. d. mikroskop. Anat. des Menschen II/1, 232 - 583. Springer, Berlin 1927.

33. McFARLAND, W. : Microspikes on the Lymphocyte Uropod. Science 163, 818 - 82o (1969).

34. MONNERON, A., W. BERNHARD : Fine Structural Organization of the Interphase Nucleus in some Mammalian Cells. J. Ultrastr. Res. 27, 266 - 288 (1969).

35. MORI, Y., K. LENNERT : The So-Called Lymph Node. In : Electron Microscopic Atlas of Lymph Node Cytology and Pathology, p. 4 - 19. Springer, Berlin-Heidelberg-New York 1969.

36. MOVAT, H.Z., N.V.P. FERNANDO : The Fine Structure of the Lymphoid Tissue during Antibody Formation. Exp. Mol. Path. 4, 155 - 188 (1965).

37. MURRAY, R.G., A. MURRAY, A. PIZZO : The Fine Structure of the Thymocytes of the Young Rat. Anat. Rec. 151, 17 - 4o (1965).

38. MURRAY, R.G., A. MURRAY, A. PIZZO : The Fine Structure of Mitosis in Rat Thymic Lymphocytes. J. Cell Biol. 26, 6o1 - 6o9 (1965).

39. DE PETRIS, S., G. KARLSBAD : Localization of Antibodies by Electron Microscopy in Developing Antibody-Producing Cells. J. Cell Biol. 26, 759 - 778 (1965).

4o. PFAB, R. : Elektronenmikroskopische Studie über verschiedene Fixierungs- und Kontrastierungsmethoden am lymphoretikulären Gewebe der Rattenlymphknoten. Inauguraldissertation, Marburg 1967.

41. REYNOLDS, E.S. : The Use of Lead Citrate at High pH as an Electronopaque Stain in Flectron Microscopy. J. Cell Biol. 17, 2o8 - 213 (1963).

42. RUPEC, M., H. HOFFMEISTER: Zur Frage der Sphäridien in normalem menschlichem Gewebe. Dermatologica Basel 136, 124 - 128 (1968).

43. SABATINI, D., K. BENSCH, R.J. BARRNETT : New Fixatives for Cytological and cytochemical Studies. V. Internat. Congr. for Electron Microscopy. Copyright 1962 Academ. Press Inc. III, Vth Avenue New York 3, N. Y. 1962.

44. SABATINI, D., K. BENSCH, R.J. : Cytochemistry and Electron Microscopy. The Preservation of Cellular Ultrastructure and Enzymatic Activity by Aldehyde Fixation. J. Cell Biol. 17, 19 - 58 (1963).

45. SABATINI, D., F. MILLER, R.J. BARRNETT: Aldehyde Fixation for Morphological and Enzyme Histochemical Studies with the Electron Microscope. J. Histochem. Cytochem. 12, 57 - 71 (1964).

46. STOECKENIUS, W.: Weitere Untersuchungen am lymphatischen Gewebe. Verh. dtsch. Ges. Path. 41, 3o4 - 311 (1958).

47. TANAKA, H. : Comparative Cytologic Studies by means of an Electron Microscope on Monocytes, Subcutaneous Histiocytes, Reticulum Cells in the Lymph Nodes and Peritoneal Macrophages. Ann. Rep. Virus Res., Kyoto Univ., Ser. AI, 87 - 149 (1958).

48. THIERY, Y.J.P.: Microcinematographic Contributions to the Study of Plasma Cells. Cellular Aspects of Immunity. In: Ciba Foundation Symposion, p. 5o - 91. Brown and Co., Boston 196o.

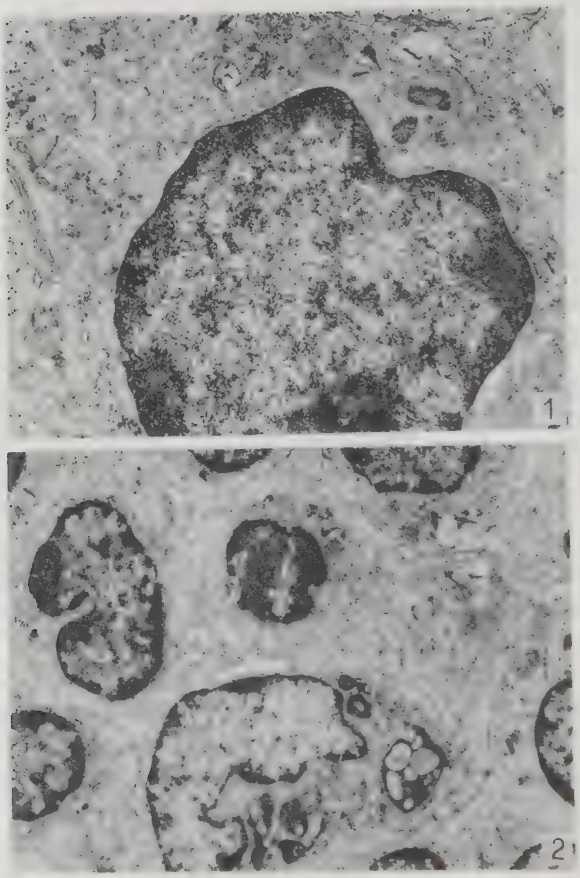


Abb. 1: Nicht phagozytierende Retikulumzelle. Organellenarmes Cytoplasma, zahlreiche mit der Umgebung verzahnte Zellfortsätze.

Glutaraldehyd-Osmiumtetroxid, Vergr. 7500 fach.

2: Phagozytierende Retikulumzelle aus der Pulpa. Bizarre Kerngestalt, phagozytierte Zellfragmente im Cytoplasma, wenig Zellorganellen.

Glutaraldehyd-Osmiumtetroxid, Vergr. 3450 fach.

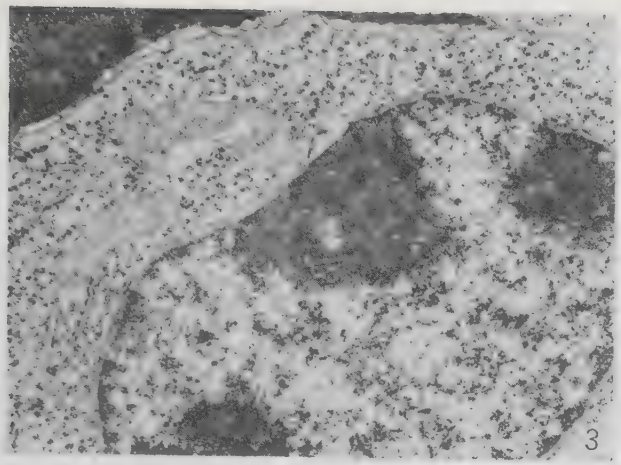
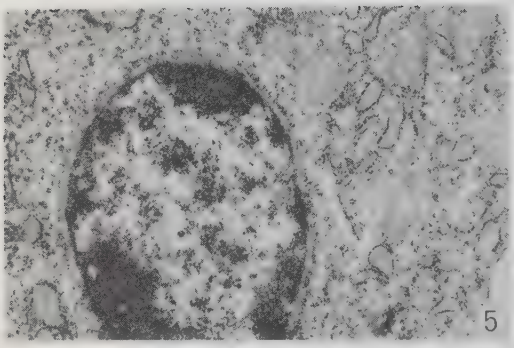
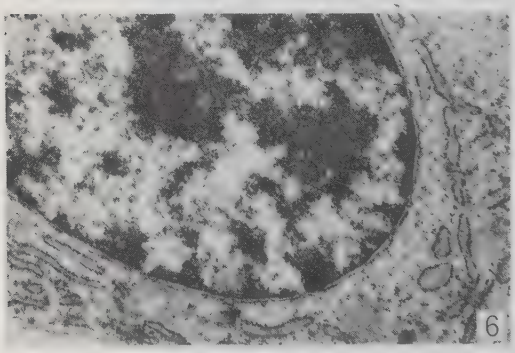


Abb. 3: Hämocytoblast.
Voluminöse Zelle mit zahlreichen Polysomen, großen Mitochondrien und spärlichem, unregelmäßig mit Ribosomen besetztem endoplasmatischen Retikulum.

4: Lymphatische Zelle.
Chromatinreicher Kern mit schmalem Cytoplasmasaum; spärlich entwickelte polar angeordnete Organellen.

3 u. 4: Glutaraldehyd-Osmiumtetroxid, Vergr. 7500 fach.





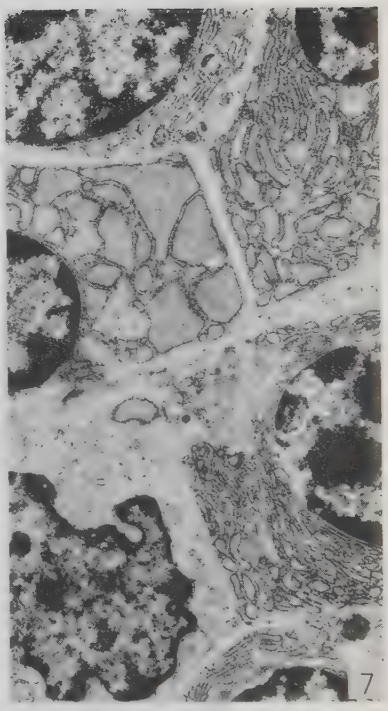


Abb. 5: Plasmoblast.
Runder mittelständiger Kern, zahlreiche Polysomen und kurze, unregelmäßig mit Ribosomen besetzte ergastoplasmatische Schläuche.

6: Proplasmazelle.
Rauhes endoplasmatisches Retikulum vermehrt im Vergleich zum Plasmoblasten.

5 u. 6: Glutaraldehyd-Osmiumtetroxid, Vergr. 7500 fach.

7: Reife Plasmazellen im Verband.
Glutaraldehyd-Osmiumtetroxid, Vergr. 3610 fach.

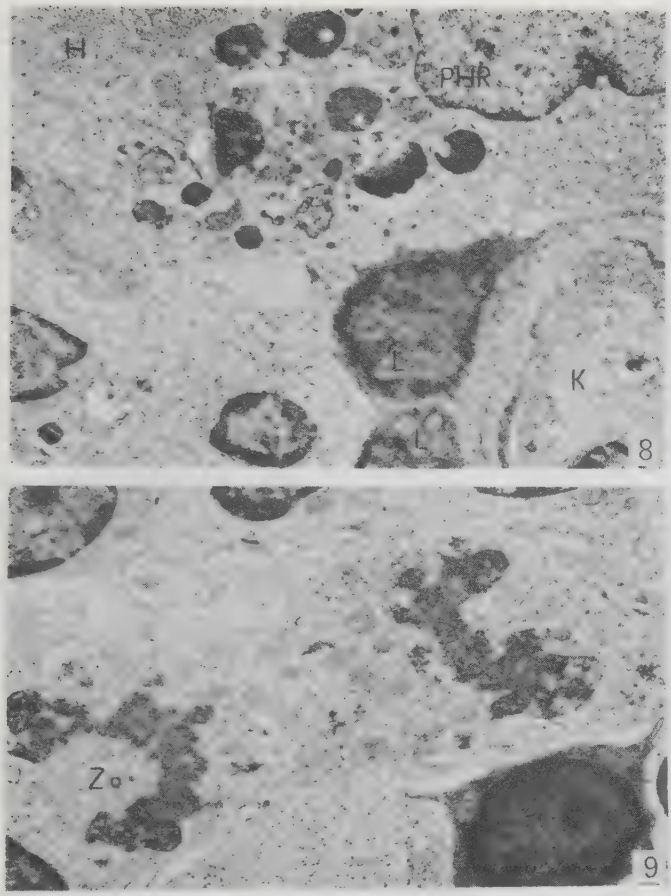


Abb. 8: Ausschnitt aus der Lymphknotenpulpa.

PHR = phagozytierende Retikulumzelle
L = dunkle Lymphozyten (perlschnurartige Anordnung angedeutet)
K = Kapillare
H = Anschnitt eines Hämocytoblasten

9: Zelle in Mitose.
Verlust der Kernhülle, bipolare Anordnung des Chromatin, deutlich sichtbares Zentriol (Z).

8 u. 9: Glutaraldehyd-Osmiumtetroxid Vergr. 3450 fach.

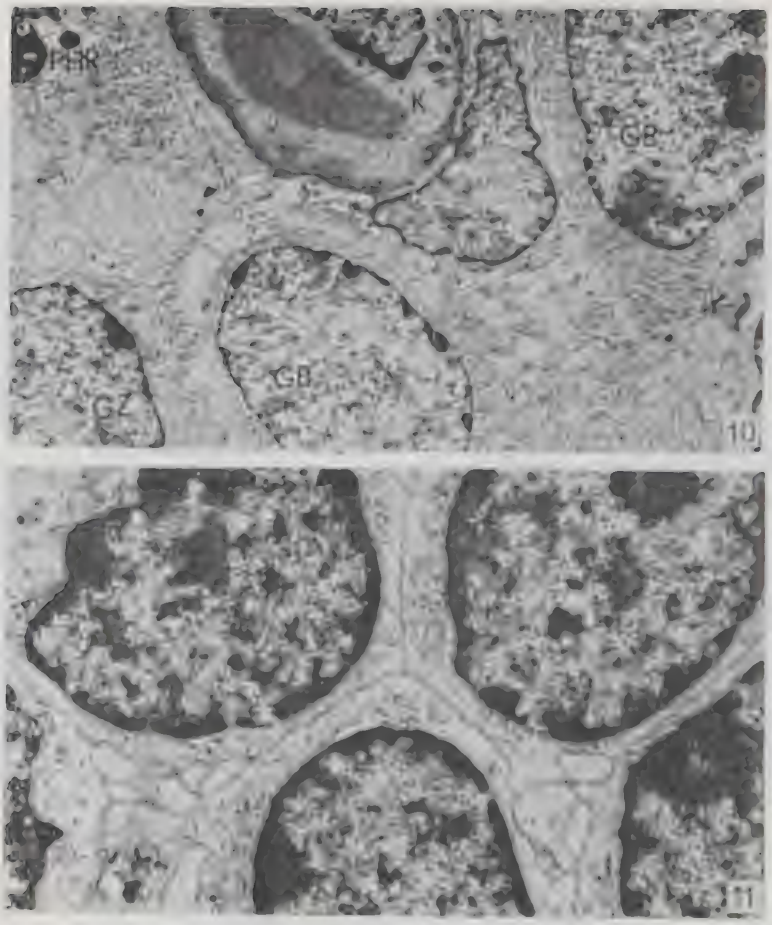


Abb. 10: Ausschnitt aus einem Keimzentrum.

GB = Germinoblast
GZ = Germinozyt
PHR = Anschnitt einer phagozytierenden Retikulumzelle
K = Kapillare

Glutaraldehyd-Osmiumtetroxid, Vergr. 3450 fach.

11: Lymphozyten aus dem Keimzentrumswall.

Glutaraldehyd-Osmiumtetroxid, Vergr. 6900 fach.

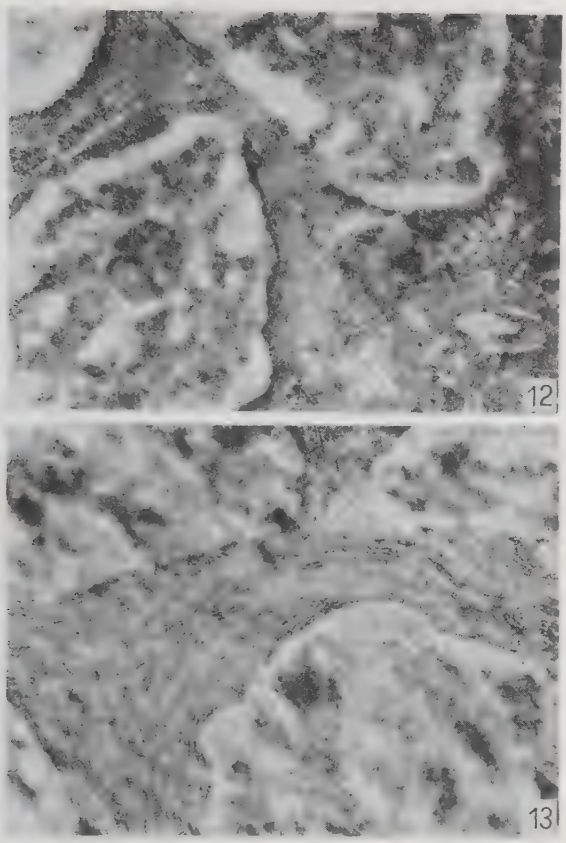
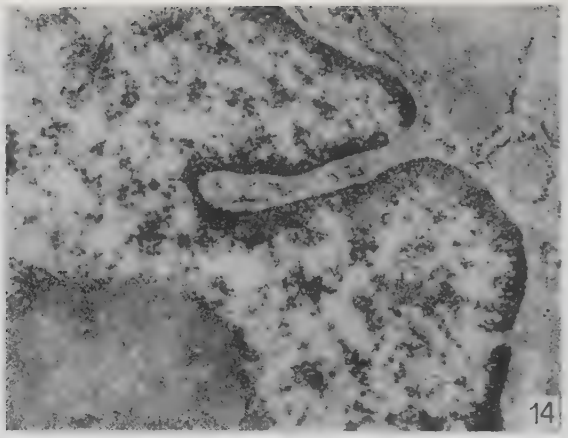


Abb. 12: Kontrastierung mit Bleihydroxid.
"Bleichung" des membranständigen und perinucleolären Chromatinsaumes, Hervortreten des Nucleolus und der Ribosomen.

Glutaraldehyd/Bleihydroxid, Vergr. 7500 fach.

13: Kontrastierung mit Bleicitrat.
Darstellung der nukleoproteidtragenden Strukturen wie bei Kontrastierung mit Bleihydroxid, jedoch geringere "Bleichung" des Chromatin.

Glutaraldehyd/Bleicitrat, Vergr. 7500 fach.



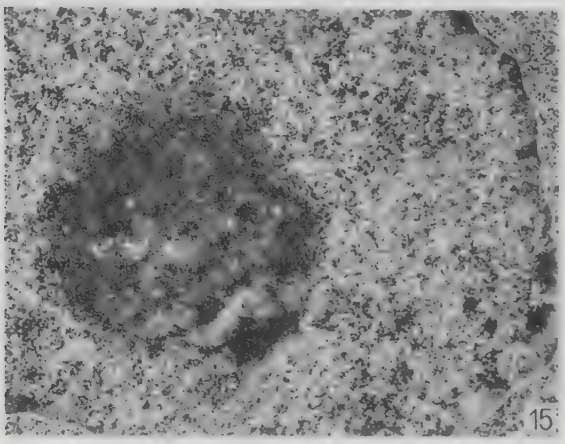


Abb. 14: Kontrastierung mit Uranylacetat.
Kontrastgebung aller nukleoproteidtragenden Komponenten. Chromatin elektronenoptisch dichter als RNS-haltige Strukturen.

Glutaraldehyd/Uranylacetat, Vergr. 17500 fach.

15: Kontrastierung mit Uranylacetat und Bleicitrat.
Kontrastreiche Darstellung der DNS- und RNS-tragenden Zellelemente ohne substanzspezifischen Unterschied in der Elektronendichte.

Glutaraldehyd/Uranylacetat u. Bleicitrat,
Vergr. 25000 fach.

Am Schluß meiner Arbeit möchte ich Herrn Prof. Dr. W. Vogell für die Überlassung des Themas, die zahlreichen Anregungen bei der Durchführung der Untersuchungen sowie die Übernahme des Referats sehr herzlich danken.

Herrn Prof. Dr. W. Thoenes danke ich für die Übernahme des Correferats und die großzügige Hilfe bei der Fertigstellung der Arbeit.

Gleichzeitig möchte ich es nicht versäumen, Herrn Dr. E. Jehn für seine freundliche Unterstützung zu danken.

L e b e n s l a u f

Am 17. Januar 1946 wurde ich als Tochter des kaufm. Angestellten Martin Osterwald und dessen Ehefrau Martha, geb. Kleinschmidt, in Bielefeld geboren.
Von 1952 bis 1956 besuchte ich die Volksschule in Menninghüffen, Kreis Herford. In den Jahren 1956 bis 1960 war ich Schülerin der Amtsrealschule Löhne, Kreis Herford. 1960 wechselte ich zur Königin Mathilde-Schule, einem staatlichen Mädchengymnasium in Herford, wo ich 1965 das Abitur ablegte.
Im WS 1965/66 begann ich mit dem Studium der Medizin an der Philipps-Universität Marburg. Mit Ausnahme des SS 1968, das ich an der Medizinischen Akademie in Lübeck verbrachte, studierte ich bis zum Staatsexamen am 23.7.1971 in Marburg. Vom 1.9.1971 an setzte ich meine Ausbildung als Medizinal-Assistentin an der Med. Univ.-Poliklinik Marburg fort.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten:

Beckmann
Behnke
Berendes
Berndt
Bommer
Brück
Buchholz
Deppe
Dimroth
Dittrich
Dölle
Exner
Feiereis
Friedrich
Ganz
Golenhofen
Grüter
Hamelmann
Herrmann
Heuser
Hort
Jacob
Karlsson
Koransky
Korb
Linneweh
Lübbers
Mahr
Mann
Martini
Mattes
Milbrandt
Petry
Piper
Pots
Ritter
Rodeck
Rohen
Schleyer
Schmid
Schreiber
Seidel
Sieber
Siegert
Solcher
Spiegelberg
van Stosch
Straub
Stutte
Thoenes
Vogell
Voss
Walcher
Wegener
Weinreich
Wendt
Zetler
Zilliken